ISTITUTO D'IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI PADOVA
DIRETTO DAL PROF. A. SERAFINI

Im 176

Contributo allo studio dell'azione disinfettante del LISOFORMIO (greggio o denso) e della sua applicazione pratica nei riguardi specialmente dell'ambiente scolastico

RICERCHE DI

GIOV. BATT. VALERI
Dottore in Medicina
Aiuto

AUGUSTA DE ANGELI
Dottore in Chimica e Farmacia
Assistente

condotte sotto la direzione
DEL
Prof. A. SERAFINI

MILANO
TIPOGRAFIA FRATELLI LANZANI
Via Fiori Oscuri, 7

1911

ISTITUTO D'IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI PADOVA
DIRETTO DAL PROF. A. SERAFINI

Contributo allo studio dell'azione disinfettante del LISOFORMIO (greggio o denso) e della sua applicazione pratica nei riguardi specialmente dell'ambiente scolastico

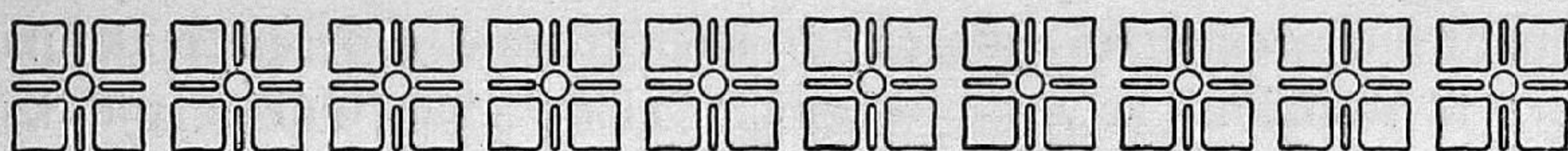
RICERCHE DI

GIOV. BATT. VALERI
Dottore in Medicina
Aiuto.

AUGUSTA DE ANGELI
Dottore in Chimica e Farmacia
Assistente.

condotte sotto la direzione
DEL
PROF. A. SERAFINI

MILANO
TIPOGRAFIA FRATELLI LANZANI
Via Fiori Oscuri, 7

1911

Il *Lisoformio* (1), composto la prima volta dal *Dr. A. Stephan* nel 1898, è in sostanza un sapone liquido alla formaldeide. Su di esso sono state eseguite non poche ricerche sperimentali tendenti a dimostrarne la quasi assoluta mancanza di tossicità e il grado del potere microbicida. Esse, però, sono state condotte per lo più col *Lisoformio puro* o *primo*, specialmente da Chirurgi e sopratutto da Ginecologi allo scopo della disinfezione individuale ginecologica e chirurgica.

Così si hanno fra gli altri i lavori di *Symanski*, *Strassmann*, *Ahlfeld*, *Cramer*, *Pfühl*, *Seydewitz* (di tutti il più importante e meglio condotto sotto la direzione del *Loeffler)*, di *Galli-Valerio*, *Vertun*, *Hammer*, *Hollos*, *Galli* e *Ceradini*, *Engels*, *Schneider* dell'Istituto per le malattie infettive di Berlino, *Zlatogorow*, *A. Gemelli*, *Bordoni-Uffredduzzi*, e, tutto affatto recente, di *Bormans*, per citare quelli che hanno condotto gli studi più dal punto di vista generale dell'azione battericida o sotto i riguardi della grande disinfezione a scopo di profilassi delle malattie infettive popolari.

Ora la maggior parte dei risultati di questi autori si accordano fra loro, con alcune differenze di grado, compresi i risultati di coloro che hanno pronunciato, nelle rispettive conclusioni dei loro esperimenti, un giudizio del tutto contrario, come il *Cramer*, l'*Hammer*, e il *Bormans*, non escluso l'*Engels*, che mentre vanta il lisoformio nella disinfezione delle mani se in *soluzioni alcooliche*, gli nega pel fattispecie e d'accordo con l'*Ahlfeld*, ogni sicura azione se in *soluzione acquosa*,

---

(1) Alla parola *Lysoform* abbiamo preferita quella di *Lisoformio*, perchè di aspetto e di suono più italiani.

mentre *Symanski* afferma di non aver trovato differenza alcuna fra le soluzioni acquose e quelle alcooliche. Questi giudizi contrari e severi sono fondati sul fatto che, per es., i rispettivi sperimentatori non hanno avuto la morte dei *bacilli del tifo*, del *bacterium coli*, del *vibrione del colera*, dello *stafilococco piogeno aureo* in meno di 20′ minuti, su per giù, pei primi; di 15′ pel terzo; di 90′ per il quarto, adoperando soluzioni di lisoformio dal 3 al 5 °/₀, o anche in 10′ minuti per lo stafilococco, secondo *Engels* e *Ahlfeld*. Quindi è un giudizio relativo al concetto che del grado di azione di un disinfettante i rispettivi autori dimostrano di avere.

Tutti gli altri sperimentatori, anche quelli che non abbiamo ricordati, perchè hanno specialmente lavorato nel campo ginecologico, hanno conchiuso invece, riconoscendo al lisoformio un potere disinfettante, che, debole per lo più verso lo stafilococco piogeno aureo, dimostra una discreta attività verso il bacillo del tifo, il bacterium coli, il bacillo della difterite e specialmente verso il vibrione colerico, come pure un'azione verso le spore del carbonchio, per la quale ultima risulterebbe secondo solo al sublimato corrosivo. Questo potere battericida del lisoformio risulta, però, come già abbiamo accennato, di grado differente secondo i diversi autori, la maggior parte dei quali è solo d'accordo nella constatazione della grande resistenza che a questo disinfettante presenta lo stafilococco.

Infatti (riserbandoci di esporre in appresso i risultati sulle spore di carbonchio, quando tratteremo specialmente di esse), mentre per alcuni (*Galli* e *Ceradini*, *Zlatogorow*) il vibrione colerico viene annientato da soluzioni al 5 °/₀ in 5′ minuti e anche in 20 secondi, per altri invece (*Seydewitz*) occorre una mezz'ora, adoperando soluzioni al 4 °/₀.

E similmente, mentre *Cerradini* e *Galli* trovano che la soluzione di lisoformio al 5 °/₀ uccide il *coli* in 30″ e il *tifo* in 25 secondi, e *Hollos* con una soluzione al 4 °/₀ ha la morte del b. del *tifo* dopo 10′ minuti e *Schneider* in 15′ minuti con una soluzione al 6 °/₀, con una invece al 3 °/₀ *Galli-Valerio* l'ha dopo mezz'ora pel coli e *Pfühl* dopo 3 ore pel tifo e *Seydewitz* l'ottiene con una soluzione al 4 °/₀, così pel tifo come pel coli, solo dopo 2 ore.

Così pure per la difterite, il tempo necessario per avere la disinfezione varia con soluzioni di lisoformio al 4-5 % da 20 secondi (*Galli* e *Ceradini*) a 15' minuti (*Hollos*) a 1 ora (*Seydewitz*); mentre per lo stafilococco piogeno aureo, se si tolgono i risultati troppo favorevoli di *Galli* e *Ceradini* (2' minuti), di *Hollos* (12' minuti) e di *Vertun* (1 ora), i risultati degli altri autori variano fra 4 e 12 ore con soluzioni del 4-5 %, e *Schneider* ha dovuto adoperare una soluzione al 6 % per averne la morte in 25 minuti primi. Solo *Engels* con *soluzioni alcooliche* al 3 % l'ha avuta *immediatamente*.

Ora è difficile spiegare questa differenza di risultati, talvolta notevole, ottenuta da autori, che al lisoformio hanno riconosciuto un potere disinfettante più o meno elevato; e mentre non è da escludersi che parecchi abbiano trasportato nelle culture traccie di lisoformio, che, come vedremo in seguito, ha un potere *antisettico* tanto sproporzionatamente superiore a quello *disinfettante*, da una parte si deve ricordare come i saponi, sia semplici sia medicati, hanno un potere disinfettante incostante per ragioni purtroppo non ancora ben note, nonostante i lavori di *Serafini*, *Holles* e *Reichenbach*; dall'altra è da osservare che il lisoformio non è una sostanza a composizione definita; che non risulta dalle ricerche della massima parte di coloro, che ci hanno preceduto, la composizione del lisoformio da essi adoperato; e che per di più con l'invecchiare si formano in questo composto a base di formaldeide, dei prodotti di polimerizzazione di questa, che, pur mantenendosi in limiti molto ristretti, possono contribuire a modificare la proprietà battericida del lisoformio.

Ora siccome questa differenza di risultati è stata ottenuta anche perchè le ricerche sono state condotte specialmente sul lisoformio *puro* o *primo*, ed è stata la causa di notevoli divergenze di apprezzamenti, talvolta perfino aspri, sul valore di questo disinfettante che certo va ogni giorno guadagnando terreno, così il prof. Serafini ha creduto utile di affidarci una serie di ricerche sperimentali da condursi specialmente sul lisoformio *greggio* ovvero *denso*, secondo una più recente nomenclatura, che di quello *puro* o *primo* è più ricco di formaldeide e maggiormente interessa l'igienista, perchè adoperabile in

special modo nella grande disinfezione a scopo di profilassi contro le infezioni epidemiche (1).

*
* *

Il lisoformio, come abbiamo già detto, è un sapone liquido alla formaldeide, del peso specifico di 1,035. Quello greggio si presenta come un liquido giallo, trasparente, di odore grade-

(1) La ditta A. Brioschi, che prepara in Italia il lisoformio, in vista degli appunti contro di questo fra noi elevati e considerando che essi possono essere fondati sulle più diffuse ricerche intorno al lisoformio *puro* o *primo*, ha pensato di affidare un nuovo e più vasto studio sul lisoformio *greggio* o *denso* a gran parte dei professori d'igiene e a parecchi professori di veterinaria delle Università Italiane. E si rivolse anche a me, che consentii di prendere parte al lavoro collettivo quando fui accertato dell'accettazione di tanti colleghi e il signor Brioschi mi scrisse la seguente lettera che pubblico a suo onore.

Milano, 20 Gennaio 1911.

Ill.mo Sig. Prof. Alessandro Serafini

PADOVA

Le ho fatto spedire il *Lysoform* con le istruzioni relative.

Sono ben lieto di dichiarare che secondo il desiderio da Lei espressomi, anzi più che desiderio condizione tassativa, Ella avrà piena libertà di fare lo studio in quel modo che meglio Le sembrerà opportuno, non solo ma che potrà farne la più ampia pubblicità anche se le risultanze fossero completamente negative, senza che per questo la mia Ditta possa in qualsiasi forma permettersi la più piccola osservazione.

Mi creda sempre di Lei obbligatissimo

Achille Brioschi.

D'altronde, vista tutta la discussione vivace che, anche nell'ambiente parlamentare, aveva avuto luogo in Italia sulla efficacia o meno del lisoformio, credetti pure doveroso per un professore d'igiene di contribuire ad accertare su di esso rigorosamente e spregiudicatamente il vero.

E appunto per ottenere un lavoro il più spregiudicato possibile ho affidato, sotto la mia direzione e sorveglianza, il programma delle ricerche da me compilato ai miei due assistenti, il Dr. Valeri, molto esperto, quale medico, di ricerche batteriologiche, e la Dr. De Angeli, laureata in chimica e farmacia, che, pur educata all'indagine batteriologica, vi ha contribuito con la sua grande diligenza nell'esatta ricerca chimica. E ho cercato di tenerli, quanto più mi è stato possibile, all'oscuro intorno alla letteratura dell'argomento, onde non ne ricevessero in qualsiasi modo suggestione alcuna.

A. Serafini.

vole, dovuto all'essenza di citronella e specialmente a quella di eucaliptus. Quello, su cui noi abbiamo fatte le presenti ricerche, ci è stato fornito dalla Ditta A. Brioschi di Milano, e ci ha dato all'analisi la seguente composizione percentuale.

Acqua	45.0
Oleato potassico	32.4
Alcool assoluto	5.0
(Formaldeide	6.8) corrispondente a
Formalina 40 °/₀	17.0
Essenze (di Citronella ed Eucaliptus) .	0.7

Data questa composizione, ci parve innanzitutto opportuno, prima di studiare l'azione disinfettante, di accertarci se e quale azione esercitassero sui germi i suoi più importanti componenti presi isolatamente. Abbiamo perciò studiata l'azione di essi e del lisoformio a varie concentrazioni sul vibrione colerico, sul bacillo della difterite, sullo stafilococco piogeno aureo, sulle spore di carbonchio ed infine sullo sputo tubercolare. E nel far ciò ci siamo limitati ad indagare se e quale potere disinfettante possedesse realmente il lisoformio greggio, non credendo opportuno e necessario di istituire paragoni con altri disinfettanti noti, non essendo nostro compito di fare questioni di paragone che potrebbero riflettersi anche in interessi non puramente scientifici, tanto più, per giunta, che mentre tale paragone risulta superfluo con disinfettanti classicamente energici, come il sublimato corrosivo, non può essere facilmente e con attendibilità istituito con altri che col lisoformio possono contendere (es. l'acido fenico, il lisolo, le creoline, ecc.) perchè manca ancora una sicura unità che possa servire di misura (1).

---

(1) Certamente nel giudicare un disinfettante occorre tenere conto della quantità che bisogna adoperarne e del tempo necessario per ottenere la disinfezione. Quindi se un disinfettante dà la morte del germe, p. es. in 5' minuti all'1 °/₀, e un altro invece la dà nello stesso tempo in soluzione al 10 °/₀, l'azione sarà la stessa, ma il secondo è certo meno attivo, come meno attivo sarebbe se desse la stessa azione in 5 ore nella proporzione dell'1 °/₀. Ma se si considerano queste cifre, un vero paragone esatto non può risultarne; e ciò appunto perchè manchiamo di un'unità di misura. Io credo che, a somiglianza di quanto s'è fatto per l'unità

*
* *

Per le nostre esperienze ci siamo serviti:

1° di culture in brodo di 24 ore;

2° di culture in agar semplice o glicerinato e in siero di sangue di 48 ore;

3° di fili di seta infettati con una sospensione omogenea degli stessi germi della predetta cultura.

---

immunizzante, potrebbe empiricamente stabilirsi, p. es., che per *unità disinfettante* s'intenda quella che nell'*unità di tempo t* (1' minuto) e con l'*unità del disinfettante d* (1 ‰) è capace di uccidere il *bacterium coli* contenuto in una emulsione omogenea in acqua distillata e sterilizzata, fatta con una cultura in agar di 24 ore a 37° C. e mescolata con la soluzione disinfettante nella proporzione di 1: 10.

Ciò posto, si potrebbe facilmente riferire ad essa il potere di qualsiasi soluzione disinfettante per mezzo di questa semplice formola:

$$P\,D = \frac{t_1 \times d_1}{t \times d}$$

$P\,D$ sarebbe il potere disinfettante;

t il tempo dell'unità disinfettante = 1' minuto;

d il titolo unitario della soluzione disinfettante = 0,001;

t_1 il tempo impiegato realmente dal disinfettante in esame espresso in minuti primi;

d_1 il titolo del disinfettante in esame, esposto sotto forma di frazione decimale.

Così p. es. un disinfettante A al 5 % uccide il vibrione colerico in 10' minuti:

$$P\,D = \frac{10 \times 0{,}05}{1 \times 0{,}001} = 500$$

Cioè di tale disinfettante sono necessarie 500 *unità disinfettanti* per lo scopo predetto.

Il disinfettante B invece al 2 ‰ in 3' minuti dà lo stesso risultato:

$$P\,D = \frac{3 \times 0{,}002}{1 \times 0{,}001} = 6$$

Cioè di questo secondo disinfettante sono invece necessarie solo 6 *unità disinfettanti* e quindi si può concludere che il secondo è 83 volte $\left(\frac{500}{6}\right)$ più energico del primo.

Soltanto così parmi possibile un paragone degno di fede; e in tale guisa mi propongo di far riprendere nei miei laboratorî lo studio comparativo dei principali disinfettanti.

A. Serafini.

In 10 cmc. di soluzione di lisoformio o in 10 cmc. di soluzione dei suoi componenti, fatte nel modo che sotto esporremo, abbiamo trasportato;

a) $^1/_2$ cm^3 di cultura in brodo;

b) due ansate di cultura su mezzo solido sempre con ansa dello stesso diametro;

c) un filo infetto.

Nei primi due casi si agitava e si stemperava per bene per avere una sospensione omogenea, quindi dopo il tempo di contatto stabilito si prelevava con pipetta graduata sterile $^1/_2$ cm^3 di soluzione di lisoformio e lo si trasportava in 10 cm^3 di acqua sterile, dopo agitazione si riprendeva $^1/_2$ cm^3 e lo si portava in brodo, o due o tre ansate per seminagione in agar o in siero di sangue a becco di flauto. Nel terzo caso invece con uncino di platino si pescava il filo che veniva lavato in 10 cm^3 di acqua e quindi portato nel mezzo culturale.

*
* *

I. **Soluzione di alcool.** — Abbiamo detto che il lisoformio contiene il 50 $^0/_{00}$ di alcool assoluto, che corrisponde al 52 $^0/_{00}$ di alcool a 95°. Facendo quindi la soluzione con questo e volendo una soluzione che corrisponda a quella al 5 $^0/_0$ di lisoformio occorre metterne in un litro di acqua sterile cm^3 2,6:

$$\text{cm}^3\ 0{,}052 \times 50 = 2{,}6$$

In questa soluzione abbiamo messo con la tecnica sopra esposta il vibrione del colera, il bacillo della difterite, lo stafilococco piogeno aureo e le spore di carbonchio, che dopo 24 ore di contatto furono trasportati nei mezzi nutritivi. Abbiamo ottenuto sempre sviluppo dei detti germi.

Quindi *la soluzione acquosa di alcool, nelle proporzioni sopra esposte, non esercita alcuna azione disinfettante.*

II. **Soluzione di oleato di potassio.** — Abbiamo ottenuta questa soluzione aggiungendo a cm^3 312 di acqua gr. 162 di sapone. Abbiamo adoperato dell'oleato di potassio spedito dalla Casa Brioschi, che essendo liquido si scioglieva

con tutta facilità, e di quello già esistente in laboratorio e spedito dalla Casa Erba, che essendo solido richiedeva per ottenere la soluzione che si seguisse il metodo indicato da *Serafini* (1) « L'oleato sminuzzato veniva posto con l'acqua « in matraccio di vetro e lasciato per mezz'ora nell'autoclave « a 110° ». Dopo la sterilizzazione si osservò purtroppo che l'oleato della Casa Erba non era completamente disciolto.

Alle soluzioni di sapone sterili si aggiungevano cm^3 26 di alcool a 95°, quindi dalla soluzione madre si prelevavano cm^3 50 che si diluivano ad un litro, avendo così la soluzione di oleato di potassio corrispondente alla quantità di sapone contenuta nella soluzione di lisoformio al 5 $^0/_0$. I risultati delle nostre esperienze fatte con la solita tecnica sono i seguenti:

TABELLA I.

Numero dell'esperienza	Sapone usato	Tempo di contatto	Vibrione colera			Bacillo difterite			Stafilococco piogeno aureo			Spore carbonchio	
			fili	brodo	agar	fili	brodo	agar	fili	brodo	agar	fili	agar
1ª	BRIOSCHI	30' minuti	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2ª		1 ora	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3ª		1.30' ora	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
4ª		4 ore	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
5ª		8 »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
6ª		12 »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
7ª		24 »	—	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—
8ª	ERBA	30' minuti	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9ª		1 ora	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10ª		1.30' ora	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
11ª		4 ore	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
12ª		8 »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
13ª		12 »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
14ª		24 »	—	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—

Il segno + indica sviluppo; — non sviluppo.

---

(1) SERAFINI: *Contributo allo studio sperimentale del potere disinfettante dei saponi comuni. Annali d'Igiene sperimentale*, Vol. VIII, fasc. II.

La soluzione di oleato potassico non esercita quindi un'azione disinfettante sul vibrione del colera, sul bacillo della difterite, sullo stafilococco piogeno aureo, mentre invece sulle spore del carbonchio ha dimostrato una speciale influenza, che certo richiede ulteriori studi per essere spiegata, potendo essere soltanto apparente per circostanze che ora ci sfuggono. Intendiamo dire che si abbia un semplice impedimento di sviluppo senza realmente la morte delle spore, come di fatto vedremo che si avvera in altra serie dei nostri esperimenti.

Questo risultato ottenuto con l'oleato potassico è conforme a quanto risulta dalle ricerche fatte dal *Reichenbach* per conoscere la ragione del tanto incostante potere disinfettante dei saponi (*Zeitschrift f. Hygiene,* vol. 59, 1908). Egli conchiude che il potere disinfettante dei saponi è tanto maggiore quanto più complessa è la molecola dei rispettivi acidi grassi *saturi,* fatta eccezione per lo stearato; e che invece è tanto minore quanto più semplice è tale molecola, e allorchè si tratta di acidi grassi *non saturi.* Ora fra questi ultimi sta appunto l'oleato, che anche a noi, come al *Reichenbach,* si è dimostrato inattivo.

III. — **Soluzione delle essenze.** — Per vedere se le essenze, che si aggiungono al lisoformio, spiegano, per se stesse, nella quantità in cui vi si trovano, un'azione disinfettante, ne abbiamo fatta una soluzione corrispondente alla quantità che se ne trova nella soluzione al 5 °/₀ di lisoformio. Abbiamo perciò sciolto, in un litro d'acqua distillata e sterilizzata, cmc. 0,17 di essenza di eucaliptus e cmc. 0,17 di essenza di citronella previa aggiunta di alcool a 95° in quantità corrispondente all'alcool che si trova nella predetta soluzione di lisoformio.

In 10 cmc. di siffatta soluzione idroalcolica delle suddette essenze si lasciavano per 24 ore i germi innanzi indicati, sia trasportativi da culture in brodo o in agar sia introdottivi su fili infetti. Quindi si faceva, dopo lavaggio in acqua e con le altre particolarità suesposte, il trasporto in brodo e in agar solidificato a becco di flauto.

In tutti i casi si ebbe nelle culture un rigoglioso sviluppo

dimostrante che, nella quantità in cui vengono a trovarsi nella soluzione di lisoformio greggio o denso al 5 %, le essenze di eucaliptus e di citronella non spiegano per se stesse alcuna azione disinfettante.

IV. **Soluzione di formalina.** — Escluso che di per sè le soluzioni di alcool, di sapone e delle essenze nelle condizioni, nelle quali concorrono a formare il lisoformio, manifestassero azione disinfettante, restava da determinare se la soluzione di sola formalina avesse un potere disinfettante maggiore, eguale, minore della corrispondente soluzione di lisoformio.

Noi sappiamo che il lisoformio contiene il 170 ‰ di formalina, il che corrisponde a cm.^{3} 0,170 per cm.^{3} di esso. Nei 50 cm.^{3} (che occorrono per avere la soluzione di lisoformio al 5 %) vi saranno cm.^{3} 8,5 di formaldeide:

$$50 \times 0{,}170 = \text{cm.}^3\ 8{,}5 \text{ di formalina.}$$

Per fare quindi la nostra soluzione di formalina, bisognava adoperare cm.^{3} 8,5 di formalina del commercio in 1000 cm.^{3} di acqua distillata e sterile.

Nella tabella seguente (2^a) riassumiamo i risultati ottenuti sperimentando con soluzioni di formalina *corrispondenti a quelle a 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 % di lisoformio.*

Tabella II.

Microrganismo	Tempo di contatto	Soluz. all'1%			Soluz. al 2%			Soluz. al 3%			Soluz. al 4%			Soluz. al 5%		
		fili	brodo	agar	fili	brodo	agar	fili	brodo	agar	fili	brodo	agar	fili	brodo	agar
Vibr. del colera	15' m.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20' »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	25' »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	30' »	—	—	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	35' »	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	40' »	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. della difterite	15' »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20' »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	25' »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	30' »	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—	—	+	—	—
	35' »	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	40' »	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	45' »	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Stafilococco p a.	3 ore	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3 ore 30'	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4 »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—	—
	4 » 30'	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	5 »	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	5 » 30'	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	6 »	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	6 » 30'	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	7 »	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Spore di carbonchio	1 ora	+		+	+		+	+		+	+		+	+		+
	1 » 15'	+		+	+		+	+		+	+		+	+		+
	1 » 30'	+		+	+		+	+		+	+		—	+		—
	2 »	+		+	+		+	+		+	+		—	+		—
	2 » 30'	+		+	+		+	+		—	+		—	+		—
	3 »	+		+	+		+	+		—	+		—	+		—
	3 » 30'	+		+	+		+	+		—	+		—	+		—
	4 »	+		—	+		—	+		—	+		—	+		—
	4 » 30'	+		—	+		—	+		—	—		—	—		—
	5 »	+		—	+		—	—		—	—		—	—		—
	5 » 30'	+		—	+		—	—		—	—		—	—		—
	6 »	—		—	—		—	—		—	—		—	—		—

Il vibrione del colera viene ucciso dalla soluzione di formalina a varie concentrazioni, corrispondente alla quantità che se ne trova in soluzioni di lisoformio *denso* del titolo qui indicato, in 30′ minuti; il bacillo della difterite in 35′-40′ minuti dalle soluzioni all'1 °/₀ e 2 °/₀ ed in 30′ minuti dalle soluzioni al 3 °/₀-4 °/₀-5 °/₀; lo stafilococco piogeno aureo in 7 ore dalla soluzione all'1 °/₀, in 6 ore e 6 ½ ore sui fili dalla soluzione al 2 °/₀, in 4 ½ e 5 ore sui fili dalla soluzione al 3 °/₀, ed in 4 ore e 4 ½ sui fili dalle soluzioni al 4 °/₀ ed al 5 °/₀.

Le spore di carbonchio vennero uccise dalla soluzione di formalina, corrispondente alla soluzione di lisoformio, alla concentrazione dell'1 °/₀-2 °/₀ in 4 ore, se trasportate con l'ansa dalla cultura in agar, ed in 6 ore se fissate sui fili, alla concentrazione del 3 °/₀ in 2 ½ ore dalla coltura in agar e 5 ore sui fili, alla concentrazione del 4 °/₀-5 °/₀ in 1 ½ ora da cultura in agar ed in 4 ½ sui fili.

Questa differenza fra la resistenza delle spore provenienti da colture in agar per mezzo dell'ansa di platino e sospese nella soluzione del disinfettante, e quelle, delle quali erano impregnati i fili, si deve forse alla ben nota scarsa capacità di penetrazione che ha la formaldeide? Certo il fatto esiste, riscontrato anche da altri; ma non risulta precisa qualsiasi spiegazione.

V. **Soluzione di lisoformio.** — Da ultimo riassumiamo nella tabella (3ª) i risultati delle ricerche fatte col lisoformio a varie concentrazioni, onde poter fare il confronto con l'azione disinfettante dei suoi componenti. In essa notiamo i tempi, in cui i vari germi vengono uccisi.

TABELLA III.

Soluzione di lisoformio al	MICRORGANISMI										
	B difterite			v. colera			Staf. piogeno aureo			b. carbonchio (spore)	
	fili	brodo	agar	fili	brodo	agar	fili	brodo	agar	fili	agar
	minuti	minuti	minuti	minuti	minuti	minuti	ore	ore	ore	ore	
1 %	40'	40'	40'	40'	40'	40'	6,30'-7	7	7	3,30'	1 ora
2 %	40'	40'	40'	40'	40'	40'	6	6	6	3,20'	35' m.
3 %	30'	30'	30'	30'	30'	30'	4	4	4	2,30'	20' »
4 %	30'	30'	30'	30'	30'	30'	4	4	4	2	20' »
5 %	25'-30'	25'-30'	25'-30'	25'-30'	25'-30'	25'-30'	3,30'-4	3,30'-4	3,30'-4	2	15' »

Lasciando da parte i risultati ottenuti con le soluzioni di lisoformio a concentrazione inferiore al 5 %, anche perchè quelle al 3 % ed al 4 % di poco se ne discostano, osserviamo che in questa massima soluzione da noi adoperata, il bacillo della difterite ed il vibrione del colera vengono uccisi in 25'-30' minuti, mentre lo stafilococco piogeno aureo in 3,30-4 ore.

Un risultato strano si ottenne con le spore di carbonchio, che sui fili non diedero più sviluppo dopo 2 ore di immersione, mentre in sospensione da cultura in agar apparivano morte dopo 15' minuti. Però in questo secondo caso si deve notare che, trasportando una sola goccia di acqua di lavaggio su agar a becco di flauto, si ottenne sviluppo dopo 1 ora. Anche allo *Zlatogorow*, che adoperava il metodo dei fili, riuscì di avere a 37° C. la morte delle spore in 15' minuti, se dalla soluzione disinfettante faceva il trasporto in brodo.

Lo sviluppo in agar e la maggior resistenza delle spore di carbonchio sui fili ha lasciato supporre che esse non venissero realmente uccise in così breve tempo (15' m.) come risultava dal trasporto in brodo, ma che il sapone, rivestendole, ne impedisse lo sviluppo, cosa che era prevedibile, perchè già di per sè la soluzione di solo sapone, dopo un tempo breve di contatto, impediva lo sviluppo delle spore di carbonchio. Per accertare se realmente si trattasse di una specie di incapsulamento abbiamo inoculato a cavie spore di carbonchio, che

erano rimaste per tempo vario a contatto con 10 cm.³ di soluzione di lisoformio al 5 % e di cui ½ cm.³ in seguito era stato trasportato in 10 cm.³ di acqua.

Un cm.³ di tale sospensione veniva inoculato sotto cute alla cavia. Se l'animale moriva, veniva fatta l'autopsia e l'accertamento batteriologico.

I risultati ottenuti sono riassunti nella tabella seguente:

Tabella IV.

Tempo di contatto	BACILLO CARBONCHIO EMATICO (spore)		
	brodo	agar	Inoculato alla cavia 1 cm.³ di sospensione
5' minuti	+	+	
10' »	+	+	morta per inf. carbonchiosa dopo 64 ore
15' »	—	+	» » » » » 106 »
30' »	—	+	» » » » » 78 »
1 ora	—	+	» » » » » 66 »
1,30' ora	—	—	» » » » » 72 »
2 ore	—	—	vive
5 ore	—	—	vive

Il segno + indica sviluppo; il segno — non sviluppo.

Di fronte a risultati di questa specie, che dimostrano giusta la nostra ipotesi, ma certo sono sempre molto favorevoli e degni di nota, abbiamo voluto assodare se le spore di carbonchio provenienti da altro ceppo avessero eguale comportamento di fronte alla soluzione di lisoformio. Abbiamo perciò sperimentato con spore di carbonchio provenienti dall'Istituto d'Igiene di Parma.

Ne abbiamo innanzi tutto provato la resistenza al vapore fluente a 100° C. e abbiamo visto che le spore di carbonchio di ambedue i ceppi resistevano lo stesso tempo (20' minuti).

La virulenza studiata inoculando quantità presumibilmente eguale di spore in cavie della stessa nidiata, è risultata mag-

giore per il ceppo di Padova: infatti le cavie in questo caso morirono in 60 ore circa, mentre dopo inoculazione di quello di Parma morirono dopo 100 ore.

Tabella V.

Tempo di contatto	Bacillo carbonchio di Padova			Bacillo carbonchio di Parma		
	brodo	agar	Inoculazione nella cavia di 1 cm³ di sospensione	brodo	agar	Inoculazione nella cavia di 1 cm³ di sospensione
5' minuti	+	+		+	+	
10' »	+	+		+	+	
15' »	—	+	morta per inf. carb. dopo 68 ore	+	+	
30' »	—	—	» » » » » 73 »	+	+	morta per inf. carb. dopo 78 ore
1 ora	—	—	» » » » » 101 »	—	+	» » » » » 35 »
1.30' ora	—	—	vive	—	+	vive

Dai risultati esposti nelle tabelle IV e V si ricava che le spore di carbonchio sono ancora capaci di dare la morte della cavia quando invece non danno più sviluppo in brodo ed in agar; e mentre a ciò può contribuire il fatto precedentemente notato che il lisoformio o meglio l'oleato di potassio esercita un'azione incapsulante, la quale pare impedisca lo sviluppo delle spore senza ucciderle, almeno per un certo limite di tempo, vedremo che forse questi risultati trovano migliore interpretazione nel notevole potere *antisettico* posseduto dal lisoformio.

In ogni modo, anche tenendo conto di questo fatto, appare che il lisoformio esplica sulle spore di carbonchio una azione disinfettante degna di nota e che sposta un po' il canone che cioè l'azione di un disinfettante allora è sicura in un determinato tempo contro tutti gli altri germi patogeni quando riesce in tale tempo ad uccidere le spore del carbonchio. Infatti esse verrebbero uccise dal lisoformio in genere in un tempo inferiore allo stafilococco.

Ciò risulta anche da ricerche altrui. Per es., il *Seydewitz* riferisce che il *Geherke*, che come lui ha fatto le sue ricerche

sotto la direzione del *Löffler,* ha trovato che le spore di carbonchio muoiono dopo:

8 ore di contatto con una soluzione di lisoformio all'1 %
6 » » » » » » » » al 3 %
4 » » » » » » » » al 5 %
22 giorni *(Seydewitz)* con una soluzione di lisoformio al 0,2 % e anche al 0,125 %.

E *Pfhul* alla sua volta ha avuto in 12 ore la morte delle spore in soluzione al 2 %.

Questa così notevole azione sporicida del lisoformio, che indubbiamente appare tale da lasciare l'animo dello sperimentatore molto perplesso anche per il fatto da noi notato della differenza di risultati in cultura e nelle cavie, si deve forse in modo speciale alla formaldeide, che del lisoformio è la base attiva e possiede infatti contro le spore del carbonchio una azione elettiva, mentre ne spiega una debole contro lo stafilococco. Lo *Schneider* infatti afferma che « nei riguardi del« l'azione sporicida le soluzioni di formalina superano tutti « gli altri mezzi di disinfezione eccettuato il sublimato ».

Ma a spiegare sia la rilevata azione sporicida, sia il fatto notato così da noi come pure da *Seydewitz,* che cioè le culture fatte con trasporto delle spore dalla soluzione disinfettante nel brodo nutritivo davano risultati negativi, mentre li davano positivi quelli col trasporto in agar, contribuisce anche il forte potere *antisettico* che il lisoformio possiede in modo addirittura sproporzionato di fronte al suo potere *disinfettante,* anzi ciò contribuisce forse molto meglio che la precedentemente notata azione incapsulante del sapone. *Seydewitz* crede che tale fatto, che egli ha notato in genere anche per gli altri germi, sui quali ha provata l'azione del lisoformio, vada interpretato nel senso che i batteri e le spore già indeboliti dall'azione del disinfettante trovano nel brodo condizioni di sviluppo meno favorevoli che in siero e in altri terreni solidi.

Noi invece preferiamo di credere che nel brodo si esplichi più facilmente l'azione *antisettica* di quelle traccie di lisoformio che nel trasporto non possono escludersi e che sono molto maggiori di quelle che con l'ansa di platino vengono traspor-

tate nella seminagione su terreni solidi. Infatti, secondo le ricerche di *Seydewitz*, l'azione antisettica sulle spore di carbonchio si dimostra in soluzioni di lisoformio all' 1 : 1500, se il trasporto si fa in brodo, e dell' 1 : 800 se in siero. Anzi egli afferma che tale azione antisettica sulle spore è maggiore di quella che viene esplicata sullo stafilococco, sul tifo e sul *b. coli,* ed è solo inferiore a quella che si esplica sul vibrione colerico. Infatti pel primo di questi quattro germi le soluzioni di lisoformio, che spiegano azione *antisettica,* sono 1 : 800 pel trasporto in brodo del germe trattato, e 1 : 500 pel trasporto in siero; e pel tifo e pel b. coli di 1 : 1000 (brodo) e di 1 : 500 (siero); mentre pel colera si dimostra la suddetta azione anche col trasporto in siero da soluzioni lisoformiche al 1 : 1200.

Alla nostra volta noi, trasportando $^1/_2$ cc. di una soluzione di lisoformio al 5 $^0/_0$ in 10 cmc. di acqua per eseguire un lavaggio dei germi che vi avevamo posti in contatto e che dovevamo trasportare in brodo per conoscere l' azione da essi subita, ottenevamo una nuova soluzione di lisoformio al 0,25 $^0/_0$, cioè del 1 : 400, quasi quattro volte superiore alla soluzione limite (1 : 1500) di *Seydewitz*. Perciò facendo da essa il trasporto di $^1/_2$ cc. in brodo, non avevamo quello sviluppo che invece otteneva questo autore trasportando in brodo dalla sua soluzione limite. E trasportando noi della nostra seconda soluzione al 0,25 $^0/_0$, cioè 1 : 400, $^1/_2$ cc. in 10 cc. di brodo, si giungeva ad una soluzione corrispondente al 0,0125 $^0/_0$, cioè a dire di 1 : 8000. E che questa quantità fosse sufficiente a spiegare ancora un'azione *antisettica* nel terreno culturale in cui veniva a trovarsi, lo dimostrano due fatti: primo che trasportando dalla seconda soluzione equivalente al 0,25 $^0/_0$ solo un paio di ansate su agar si otteneva lo sviluppo mancato invece nel brodo; secondo che, se da una provetta col brodo in cui s'era fatto il trasporto di $^1/_2$ cc. della soluzione al 0,25 $^0/_0$ contenente le spore e non s'era avuto alcun sviluppo, si trasportavano nell'agar solo due ansate, si aveva in questo lo sviluppo che mancava nel brodo.

Questo risultato, mentre spiega l'apparente effetto meraviglioso di azione microbicida che, con le culture in brodo, risulterebbe essere esercitato dal lisoformio sulle spore di car-

bonchio, concorre a dimostrare quello che da molti dei su citati autori è stato riconosciuto, cioè che il lisoformio gode di un *potere antisettico*, cioè di una capacità di impedire lo sviluppo e l'azione dei germi, addirittura straordinario, e in ogni modo sproporzionato di fronte al suo *potere disinfettante*, cioè della capacità di uccidere i germi con i quali viene in contatto.

Così, oltre a quanto abbiamo visto risultare dalle ricerche di *Seydewitz* e nostre, si hanno i seguenti altri dati:

Symanski ottiene una notevole azione antisettica aggiungendo a liquidi fortemente putridi e ricchi di germi in azione il lisoformio nella proporzione di 1 : 1000; *Galli* e *Ceradini* impediscono l'alterazione del latte con aggiunta di lisoformio nella proporzione di 1 : 10000; e *Galli-Valerio* non ottiene sviluppo se, senza previo sciacquamento in acqua sterile, fa il trasporto in brodo di vetrini infetti e trattati con soluzione lisoformica al 3 °/₀, onde anch'egli afferma che bastano *traccie* di lisoformio per ottenere una notevole azione antisettica. Questa azione si deve specialmente alla formaldeide, che come si conosce dalle ricerche di altri sperimentatori, ha una così notevole azione *antisettica* che, secondo *Walter*, basta un'aggiunta di formalina alla gelatina nella proporzione di 1 : 10000 perchè non possano svilupparvisi lo stafilococco piogeno aureo, il bacillo del tifo, il bacillo della difterite, il vibrione colerico e il bacillo del carbonchio. A rafforzare questo potere antisettico della formalina nel lisoformio, che la contiene in quantità tale che in una sua soluzione al 1 : 10000 se ne trova una quantità inferiore alle suddette soluzioni di formalina pura al 1 : 10000, deve concorrere l'azione collettiva degli altri componenti il lisoformio stesso, per quanto essi singolarmente non spieghino, come abbiamo visto, alcuna azione disinfettante.

Noi, perciò, abbiamo cercato di evitare il trasporto di tali traccie di lisoformio con i germi dalla soluzione disinfettante nella cultura, e perciò abbiamo cercato di avvalerci dell'azione che l'ammoniaca esplica sulla formaldeide dando luogo alla formazione della esametilentetramina.

Ma pur avendo constatato anche noi con replicate esperienze, come l'*Engels*, la inattività disinfettante di quest'ultima sostanza, abbiamo dovuto rinunciarvi perchè non pratica.

In ogni modo, anche indipendentemente da questa così notevole azione sporicida, forse più apparente che reale, e specialmente dovuta all'influenza antisettica delle traccie di lisoformio trasportate nelle culture, se si vogliono tener presenti solo i risultati di quegli sperimentatori, che hanno ottenuto la morte delle spore di carbonchio in tempo più lungo, per es. *Vertun* in 30 ore con soluzione 3 %, si ha che il lisoformio distrugge queste così importanti forme permanenti molto prima e più sicuramente che non gli altri disinfettanti, fatta eccezione del sublimato corrosivo. E ciò anche se le spore abbiano eccezionalmente resistito a qualche altro 50-60 ore, sapendosi come, per es., una soluzione al 5 % di acido fenico, cioè uno dei più accreditati e popolari disinfettanti, impiega parecchi giorni, talvolta perfino una quarantina, per spiegare un'azione sporicida. Del resto anche *Vertun* ha ottenuto la morte delle spore di carbonchio in 5 ore, usando una soluzione al 5 % (1).

---

(1) Per dimostrare il potere puramente *antisettico* della soluzione acquosa di lisoformio, Valeri e De Angeli hanno fatto anche quest' altra importante serie di ricerche, adoperando soluzioni lisoformiche al 1-2-4 ‰ su culture di vibrione del colera.

Quindici capsule Petri contenenti uno strato regolare di agar solidificato vennero infettate strisciando, senza intaccare il mezzo nutritivo, con ansa di platino bagnata in una cultura in brodo di 24 ore di vibrione del colera (Salerno 1910). Le prime tre piastre vennero poste in termostato a 37° tal quali e servirono di controllo: in altre tre invece si versarono, dopo 15' minuti da che erano state infettate, 10 $cm.^3$ di acqua distillata sterile che si lasciarono a contatto per 5' minuti; e nelle altre nove rispettivamente la stessa quantità di soluzione all'1-2-4 ‰ di lisoformio che si lasciò nelle capsule per uguale tempo.

Dopo trascorsi i cinque minuti i liquidi vennero gettati avendo cura di eliminarne la maggiore quantità possibile.

I risultati dell'esperienza, dopo 6 giorni di permanenza delle piastre in termostato, furono i seguenti:

Abbondantissimo sviluppo di colonie di colera nelle piastre di controllo ed in quelle trattate con acqua: nessun sviluppo in quelle trattate con soluzione all' 1 - 2 - 4 ‰ di lisoformio.

Ripetuta l'esperienza nelle stesse condizioni, usando altro ceppo di v. del colera (Berlino) si ottennero identici risultati. Abbiamo visto innanzi che per spiegare un'azione *disinfettante* sul v. del colera occorrono 30 minuti per lo meno con soluzioni in media dieci volte più forti.

*
* *

Oltre alle riferite ricerche sui predetti germi isolati in cultura pura, abbiamo creduto necessario, in vista del nostro speciale compito nei riguardi dell'ambiente scolastico, di esperimentare l'azione del lisoformio anche sullo *sputo tubercolare.*

Abbiamo studiato tale azione direttamente sullo sputo tu-

Ora questa peculiare esperienza può consigliare un'applicazione delle soluzioni diluitissime (1 ‰) di lisoformio nelle seguenti circostanze.

Si è visto — e si vede tutt'ora — che in tempo di sospetto di epidemia o di epidemia in atto, alcune amministrazioni sanitarie inaffiano abbondantemente le vie cittadine con soluzioni disinfettanti, per lo più di calce (latte di calce) o di alcuni derivati del catrame. Io non voglio credere che si faccia ciò con la fisima di disinfettare la superfice stradale, giacchè debbo essere persuaso che si sappia che per questo scopo si incontrano difficoltà pratiche fino a ritenerlo realmente impossibile. Voglio credere invece che si parta da un concetto che può essere giustificabile, cioè di voler ottenere l'inumidimento della superficie stradale per evitare l'innalzamento della polvere senza che tale inumidimento faccia aumentare, favorendone lo sviluppo, il numero dei germi, che poi, nel periodo di disseccamento, si innalzerebbero con la polvere in maggior numero e più pericolosi. Quindi si farebbero simili inaffiamenti con soluzioni disinfettanti più a scopo *antisettico* che *disinfettante.*

Ora sebbene io ritenga anche ciò superfluo e stimi sufficiente allo scopo di tenere le vie bagnate in modo così continuativo da non raggiungere, fra uno e l'altro inaffiamento, tale stato di secchezza da potersi di nuovo formare molta polvere capace d'elevarsi, credo che, volendo invece proprio adoperare ad ogni costo delle sostanze disinfettanti e, come ho detto, all'unico scopo giustificabile, cioè quello *antisettico,* si possa avvalersi in modo speciale e preferibile della soluzione di lisoformio. Infatti, dovendo scartare il sublimato, fra l'altro pei pericoli di intossicamento diretti od indiretti che presenta, e volendo evitare il latte di calce che sporca le strade e desta maggiore apprensione coll'aspetto che la superficie stradale così acquista; e infine volendo evitare anche l'odore dei derivati del catrame, che desta la preoccupazione pubblica nel tempo stesso che disturba la maggior parte dei cittadini, l'uso della soluzione al 1 ‰ di lisoformio corrisponderebbe bene e meglio ancora se, per non richiamare la pubblica attenzione, al lisoformio non fossero aggiunte le essenze odorose. E ciò anche dal punto di vista economico: infatti su 1000 litri di acqua d'inaffiamento si dovrebbe aggiungere un chilogramma di lisoformio *greggio* o *denso,* che costa una lira al chilogramma e certo anche meno in caso di grandi forniture.

A. Serafini

bercolare anzichè sul bacillo di Koch da cultura, sia per metterci nelle condizioni solite di lotta contro questo germe, sia per vedere se questa soluzione fosse capace di disinfettare la parte interna dell'espettorato. Le esperienze erano condotte nel modo seguente. Grossi sputi con forte contenuto di bacilli della tubercolosi, provenienti sempre dallo stesso individuo, venivano lasciati per tempi vari alla temperatura di 16°-17° C. in soluzione al 5 °/₀ di lisoformio contenuta in una sputacchiera usuale.

Tolti dalla soluzione disinfettante, gli sputi venivano lavati ripetutamente in acqua sterile in modo da asportare dalla loro superficie il lisoformio. Lo sputo in questo momento presentava la superficie biancastra, come se la mucina fosse coagulata.

Dopo il lavaggio lo sputo veniva emulsionato con un po' di acqua sterile in un mortaio con tutte le norme dell'asepsi, quindi l'emulsione ottenuta veniva iniettata sotto cute della coscia di una cavia. Si tenevano in osservazione le cavie inoculate, che, se non morivano prima di ottanta giorni, venivano uccise e sezionate. Se presentavano lesioni, si procedeva all'accertamento batteriologico.

Nella tabella seguente (6ª) riassumiamo i dati delle ricerche eseguite:

TABELLA VI.

Numero della esperienza	Data	Tempo di contatto dello sputo con il lisoformio	RISULTATI
1.ª	10 V 1911	15' minuti	Morta per tubercolosi dopo 10 giorni
2.ª	10 V 1911	30' »	» » » » 13 »
3.ª	10 V 1911	45' »	» » » » 12 »
4.ª	10 V 1911	1 ora	» » » » 16 »
5.ª	5 V 1911	1 ora	» » » » 10 »
6.ª	5 V 1911	1,30' ora	vive
7.ª	10 V 1911	1,30' ora	vive
8.ª	10 V 1911	2 ore	vive

Il bacillo di Koch contenuto nello sputo viene ucciso dal lisoformio in soluzione acquosa al 5 °/₀ nel tempo di ora 1.30'.

Questa conclusione è in disaccordo con quella, alla quale di recente è venuto il *Bormans*, che non riscontrava alcuna azione microbicida sullo sputo tubercolare, neppure dopo 4 giorni, con una soluzione al 5 °/₀. Ciò forse si deve alla differenza di metodo (e ci proponiamo di indagarne la ragione) immergendo egli nella soluzione pezzetti di carta impregnati di espettorato. Noi, però, abbiamo avuto lo stesso nostro risultato suesposto anche con alcune varianti del metodo, come vedremo a proposito della disinfezione dei pavimenti.

*
* *

Influenza della temperatura sull'azione disinfettante del lisoformio.

Le provette contenenti 10 cm.³ di soluzione di lisoformio al 5 °/₀ venivano lasciate per alcune ore in termostato a 37° C., altre invece venivano messe in ghiacciaia entro campana di Koch ripiena di ghiaccio. Mentre nel primo caso la soluzione rimaneva limpida, nel secondo caso il sapone emulsionandosi intorbidiva la soluzione.

Nella tabella 7ª esponiamo i tempi, in cui i vari germi vengono uccisi dalla soluzione di lisoformio al 5 °/₀.

TABELLA VII.

Soluzione di lisoformio alla temperatura di	Bacillo difterite	Vibrione colera	Stafilococco piogeno aureo	Bacillo carbonchio spore
2.° C	1,15' ora	1,15' ora	6 ore	3 ore
37.° C	15' minuti	15' minuti	2 ore	15' minuti

L'azione del lisoformio, come quella di tutti i disinfettanti, aumenta con l'aumentare della temperatura, diminuisce col diminuire di essa.

Tale risultato è del resto conforme in massima a quello ottenuto da altri sperimentatori, perchè, se il solo *Symanski* non ha trovato differenza alcuna fra l'azione a caldo e quella

a freddo (il che è erroneo e può tutt'al più dipendere dall'avere innalzata di tanto la temperatura della soluzione disinfettante da lasciarne sfuggire la formaldeide), *Schneider* e *Zlatogorow* l'hanno trovata evidentissima. *Schneider* infatti ha notato che, mentre a 17° C. le soluzioni di lisoformio all'1 % non hanno alcuna efficacia neppure dopo 60′ minuti, ed occorre una soluzione al 6 % per uccidere lo stafilococco piogeno aureo dopo 25′ e il bacillo del tifo in 15′ minuti; a 37°-40° C. la soluzione all'1 % uccide lo stafilococco in 25′ e il b. del tifo in 20′; e le soluzioni al 2 % e al 3 % uccidono lo stafilococco ed il tifo rispettivamente in 10′ ed in 5′ minuti. Se poi la temperatura s'innalza a 47°-50° C. con la soluzione all'1 % lo stafilococco viene ucciso in 5′, laddove il tifo richiede ancora 10′ minuti; e con la soluzione al 2 % e al 3 % la morte di tali germi si ha istantaneamente. Però lo *Schneider* giustamente consiglia di non andare oltre 40° C. per evitare il pericolo dell'evaporazione della formaldeide.

Lo *Zlatogorow* alla sua volta ha trovato che, mentre alla temperatura di 8° C. occorrevano 30′ minuti per ottenere con una soluzione di lisoformio al 3 % la morte del vibrione colerico, questa si aveva istantaneamente a 37° C.; e mentre occorrevano 6 ore per uccidere con la stessa soluzione lo stafilococco a 15° C., questo si otteneva in 1 ora a 37° C.; come alle stesse condizioni di temperatura e di soluzione le spore di carbonchio venivano annientate in 24 ore e rispettivamente in 15′ minuti, studiando, però, questa azione col trasporto in brodo.

*
* *

Azione deodorante del lisoformio.

Il lisoformio è un liquido di odore gradevole dovuto alla presenza dell'essenza di Citronella e di quella di Eucalyptus.

Versando della soluzione di lisoformio al 5 % sul pavimento di cessi fetidi per lo svolgimento, fra gli altri gas, di H_2S ed NH_3, si notava che l'odore nauseante scompariva rapidamente. Restava però a vedere se ciò dipendesse dal fatto che tali gas venissero fissati o se si trattasse di una semplice sovrapposizione di odore più energico.

Per le nostre esperienze abbiamo sparso sul pavimento di vari cessi, sia la soluzione idroalcoolica di essenze di Eucalyptus e di Citronella, sia, a distanza di vari giorni, la soluzione al 5 °/₀ di lisoformio. Nell'uno e nell'altro caso abbiamo notato che l'odore nauseante scompariva totalmente per tutta la giornata ed era appena sensibile nel giorno seguente, mentre perdurava l'odore o dell'essenza o del lisoformio.

Restava ancora a vedere se la formaldeide del lisoformio, analogamente a quanto succede per la formaldeide libera, fissasse l'ammoniaca dando esametilentetramina e se a questa, fra l'altro, si dovesse la scomparsa del cattivo odore.

Abbiamo condotto le nostre esperienze nel seguente modo:

Ci siamo serviti, analogamente a quanto faceva, in questo stesso Istituto, il *Ronzani* (1), di NH_3 gassosa, ottenuta mediante l'evaporazione della soluzione concentrata di ammoniaca del peso specifico 0.960, che veniva raccolta, per spostamento di aria, in un recipiente di vetro capovolto, chiuso da un tappo di gomma a doppia via.

Questo tappo era attraversato da due tubi di vetro, di cui uno lungo era in comunicazione con l'apparecchio a svolgimento e giungeva fino al fondo del recipiente, l'altro corto serviva per l'efflusso dell'aria e quindi dell'NH_3 gassosa in eccesso. Quando la reazione dell'NH_3 era positiva, cioè quando la carta rossa di tornasole diveniva prontamente ed intensamente azzurra, allora si strozzava col dardo della fiamma Bunsen la parte affilata del tubo di efflusso, quindi di quello di afflusso del gas.

Questo recipiente di vetro al momento dell'uso veniva introdotto in un cassone di un metro cubo e mandato in pezzi con un semplice congegno.

Il cassone era di legno, paraffinato con cura esternamente ed internamente per evitare l'eventuale entrata dell'aria e la sfuggita dell'NH_3. Era munito all'interno di un ventilatore, che veniva mosso da manovella esterna, appena il recipiente era rotto, onde avere un miscuglio omogeneo di NH_3 ed aria.

---

(1) Ronzani: *Intorno all'influenza delle inalazioni di gas irritanti sui poteri di difesa dell'organismo contro le malattie infettive.* (Parte II). *Annali d'igiene sperimentale,* vol. XIX (nuova serie) p. 139, anno 1909.

Si faceva subito una prima aspirazione di 20 litri di aria, facendola passare attraverso 100 cmc. di soluzione $\frac{N}{10}$ di $H_2 SO_4$, che veniva titolata con soluzione $\frac{N}{10}$ di $N^a OH$. Dopo cinque ore si faceva una 2ª aspirazione per vedere se vi fossero perdite e per avere un dato di riferimento sulle successive esperienze, che si facevano bagnando la superficie interna del cassone con una costante quantità di soluzione di lisoformio al 5 %.

Nelle tabelle seguenti (8ª-9ª) è espressa in grammi la quantità di ammoniaca libera nell'aria, che veniva fissata dalla soluzione $\frac{N}{10}$ di $H_2 SO_4$, riportando il calcolo a 1000 litri di aria.

TABELLA VIII.

Numero dell'esperienza	Quantità di NH_3 libera in 1000 litri d'aria		
	1ª aspirazione	2ª aspirazione	Osservazioni
1.ª	gr. 0,682	gr. 0,170	Persiste l'odore di NH_3
2.ª	» 0,725	» 0,256	» » »
3.ª	» 0,597	» 0,170	» » »
Media	gr. 0,668	gr. 0,198	

TABELLA IX.

Numero dell'esperienza	Quantità di NH_3 libera in 1000 litri d'aria in presenza della soluzione di lisoformio al 5 %		
	1ª aspirazione	2ª aspirazione	Osservazioni
1.ª	gr. 0,682	gr. 0,085	Si sente l'odore di lisoformio
2.ª	» 0,853	» 0,128	» » »
3.ª	» 0,426	» 0,085	» » »
4.ª	» 0,341	» 0,085	» » »
Media	gr. 0,575	gr. 0,095	

Adoperando sempre la stessa quantità di NH_3 gassosa ed una costante quantità di lisoformio, come risulta dalla tabella (9ª), notiamo una diminuzione di NH_3 maggiore che nelle ri-

cerche esposte nella tabella (8ª). Tale diminuzione è ancora più sensibile nella seconda aspirazione, per cui dovendo ammettere che le perdite siano eguali, si deve conchiudere che un po' di NH_3 viene fissata dalla formaldeide del lisoformio dando esametilentetramina. Abbiamo però sempre dell'NH_3 libera, come lo dimostra l'analisi chimica dell'aria, mentre, aprendo subito dopo la seconda aspirazione il cassone, si sente solo l'odore del lisoformio.

Quindi, almeno per l'ammoniaca (e abbiamo ragione di ritenere lo stesso anche per l'idrogeno solforato, col quale pure abbiamo fatto tentativi di esperimento) crediamo di poter conchiudere che il potere deodorante del lisoformio si debba specialmente alle essenze che contiene e quindi consista sopratutto in una sovrapposizione degli odori di queste agli odori disgustosi che si vogliono combattere, come del resto dimostra anche il fatto che la soppressione degli odori cattivi si è avuta col semplice uso delle sole essenze. E se ciò si può in sostanza conchiudere per un corpo come l'NH_3, che nel lisoformio trova ragione di essere fissata, *a priori* si deve conchiudere per i complessi altri odori delle sostanze organiche in putrefazione, che non sarebbe facile intendere come dal lisoformio potrebbero venire chimicamente neutralizzati. Perchè, se pure è assai notevole, come abbiamo visto, l'azione antisettica dei lisoformio, che quindi potrebbe agire impedendo l'azione ulteriore dei germi della putrefazione, questo non varrebbe a spiegare nè la quasi immediata sua azione deodorante, nè tanto meno tale sua azione in luoghi, come nelle latrine malfatte, in cui i gas della putrefazione continuano a fuoriuscire dai fori in diretta comunicazione col pozzo nero sottostante.

Si tratta principalmente e propriamente di una sovrapposizione di odori: *il che ha anche i suoi non piccoli vantaggi pratici.*

*
* *

I. — Disinfezione di oggetti diversi.

Abbiamo eseguito le nostre esperienze su giocattoli diversi per qualità e per colorazione: di legno colorato e non colorato, di gomma verniciata e non verniciata, di celluloide e di latta a colori diversi, i quali vengono molto adoperati negli asili infantili e nelle prime scuole. Inoltre su lapis e portapenne non colorati, colorati e verniciati; su bicchieri di vetro; su piatti di porcellana e di ferro smaltato. E ciò perchè il contributo di queste nostre ricerche prende di mira, per l'applicazione pratica dell'azione disinfettante del lisoformio, anche e principalmente l'ambiente scolastico.

Prima di tutto si procedeva alla sterilizzazione di questi oggetti, tenendoli per un'ora in autoclave entro campane di Koch, quindi in una parte, limitata da un segno fatto in precedenza, venivano infettati con sospensione acquosa dei soliti germi. A seconda della qualità dell'oggetto, o si asportava, dopo asciugamento, un po' di polvere con un coltellino sterile, o si strofinava la superficie con batuffolo di cotone sterile bagnato in acqua, e si portava un po' del materiale nei mezzi nutritivi per accertarsi che le vernici ed i colori non esercitassero eventualmente sui microrganismi un'azione disinfettante.

Avendo ottenuto in tutti i casi lo sviluppo del bacillo della difterite e del vibrione del colera dopo due ore, e dello stafilococco piogeno aureo dopo 24 ore, abbiamo potuto, per le nostre esperienze, escludere ogni influenza delle vernici.

Si procedeva quindi alla disinfezione immergendo l'oggetto in soluzione al 5 °/₀ di lisoformio, lo si lavava per due volte in acqua sterile ed in seguito ad intervalli vari di tempo, a seconda del germe in esame, si facevano delle prelevazioni nella zona limitata dal segno o raschiando con coltellino un po' di materiale, che si portava in 10 cmc. di acqua, o strofinando con batuffolo sterile, che si sbatteva nella stessa quantità di acqua. In tutti e due i casi si portava 1/2 cc. di tale acqua in brodo e due goccie in agar a becco di flauto. Anche dell'acqua di lavaggio si facevano delle semine nei mezzi sopradetti.

I risultati, ottenuti sperimentando sui vari oggetti e con i vari germi, sono riassunti nella tabella che segue (10ª).

TABELLA X.

Numero delle esperienze	OGGETTO	RESISTENZA			CONDIZIONI DELL'OGGETTO DOPO LA DISINFEZIONE
		v. colera	b. difterite	Stafilococco piog. aureo	
		minuti	minuti	ore	
1.ª	Lapis non verniciati	30'	25'	3,30'	si dividono nelle due parti
2.ª	Lapis verniciati.	30'	30'	3,30'	» » »
3.ª	Portapenne colorati ordinari	30'	25'	4	si decolorano
4.ª	Portapenne verniciati.	30'	35'	3,50'	nessun cambiamento
5.ª	Bicchieri di vetro e piattini di porcellana	25'	25'	3,30'	» »
6.ª	Piattini di ferro smaltato	25'	30'	3,45'	» »
7.ª	Cavallino di legno colorato	35'	35'	3	il colore viene asportato completamente
8.ª	Cavallino di legno non colorato . . .	25'	25'	3,30'	nessun cambiamento
9.ª	Palla di gomma non verniciata. . . .	30'	30'	4	non viene guastata
10.ª	Palla di gomma verniciata	25'	30'	4	» » »
11.ª	Pesce di celluloide colorato	30'	40'	3,30'	» » »
12.ª	Tromba di latta verniciata.	25'	35'	3,45'	nessun cambiamento.

La resistenza dei germi sparsi sulla superficie di vari oggetti, che furono immersi nella soluzione al 5 °/₀ di lisoformio, è pressochè analoga a quella dei germi stessi portati direttamente dalle culture pure nella soluzione disinfettante. Cioè, per disinfettare detti oggetti per mezzo della soluzione al 5 °/₀ di lisoformio, occorrono 3 ½-4 ore per lo stafilococco piogeno aureo, 30' minuti per il vibrione del colera e 25' per il bacillo difterico.

*
* *

II. — Disinfezione delle stoffe.

Abbiamo quindi studiato l'azione disinfettante della soluzione di lisoformio al 5 °/₀ su vari tessuti infettati col vibrione del colera, col bacillo della difterite e con lo stafilococco piogeno aureo; ciò in considerazione della possibilità della disinfezione specialmente dei grembialini che può ricorrere facilmente nella vita delle scuole e degli asili o giardini d'infanzia.

Per eseguire la ricerca abbiamo anzitutto sterilizzate le stoffe e precisamente delle striscie di stoffa lunghe cm. 7, larghe cm. 0,5, di qualità e di colore diverso. La sterilizzazione fu fatta in autoclave entro scatole Petri. Dopo la sterilizzazione furono infettate con una sospensione omogenea di uno dei microrganismi in esame, in modo tale che le stoffe fossero imbevute completamente del liquido.

Si procedette quindi alla disinfezione adoperando la soluzione di lisoformio al 5 °/₀ e lasciando le striscie di stoffa in essa immerse per tempi diversi a seconda della natura del microrganismo. Le striscie quindi venivano sbattute successivamente in due provette contenenti acqua sterile, onde privarle completamente del lisoformio; e dalla seconda provetta, mediante pipetta sterile, si prelevavano due goccie di acqua che si trasportavano in brodo, una goccia di acqua che si strisciava con ansa di platino su agar a becco di flauto, e inoltre si portava la striscia di stoffa direttamente in brodo.

I risultati delle nostre esperienze sono i seguenti:

lo stafilococco piogeno aureo resistette quattro ore e mezza;

il bacillo della difterite 35' minuti;

il vibrione del colera 30' minuti.

Ciò indipendentemente dalla natura e dal colore delle stoffe. *E quindi per la disinfezione dei grembialini e simili con la soluzione al 5 $^0/_0$ di lisoformio occorrono i tempi qui indicati per ciascuna delle tre specie microrganiche considerate.*

Per vedere poi se in seguito alla disinfezione i tessuti rimanessero danneggiati, abbiamo eseguito le nostre esperienze in due maniere:

a) immergendo la stoffa per tre volte nella soluzione di lisoformio al 5 $^0/_0$ e lavandola subito abbondantemente con acqua;

b) lasciando immersa la stoffa per un'ora e poi lavandola.

Dopo asciugamento le nostre osservazioni furono le seguenti:

Tessuto di qualità finissima:

di color verde	*a* = leggiero cambiamento della tinta. *b* = leggiero cambiamento della tinta.
di color rosso.	*a* = nessun cambiamento. *b* = nessun cambiamento.
a righe bianche e celesti	*a* = nessun cambiamento. *b* = nessun cambiamento.
di color bianco grigio. .	*a* = nessun cambiamento. *b* = nessun cambiamento.

Tessuto di qualità fina:

di color rosa	*a* = nessun cambiamento. *b* = nessun cambiamento.
di color grigio	*a* = la tinta è un po' più oscura. *b* = la tinta è un po' più oscura.
di color bleu	*a* = nessun cambiamento. *b* = nessun cambiamento.
di color bianco e nero .	*a* = nessun cambiamento. *b* = nessun cambiamento.

Tessuto di qualità ordinaria:

di color rosa	*a* = nessun cambiamento. *b* = nessun cambiamento.
di color celeste	*a* = nessun cambiamento. *b* = nessun cambiamento.
di color rosso.	*a* = nessun cambiamento. *b* = nessun cambiamento.
colorato in noce con fiori azzurri e foglie verdi .	*a* = nessun cambiamento. *b* = i fiori e le foglie sono leggermente sbiaditi.

a righe bianche e nere .	*a* = nessun cambiamento. *b* = nessun cambiamento.
a quadrati noce e bianchi	*a* = nessun cambiamento. *b* = nessun cambiamento.
a quadrati verdi e bleu .	*a* = la colorazione verde è più intensa. *b* = la colorazione verde è più intensa.

Da queste esperienze emerge chiaramente che in genere le stoffe non vengono danneggiate dalla soluzione di lisoformio, e solo, in qualcuna di esse, si nota un leggiero, uniforme cambiamento di tinta, effetto dovuto alla formaldeide che si sa come spieghi su alcuni colori appunto una simile azione.

*
* *

III. — Disinfezione delle pareti.

Per la disinfezione delle pareti abbiamo seguito il metodo usato da Tonzig in questo stesso Istituto (1).

Da una parte circoscritta di una parete dell'Istituto d'igiene si prelevava, raschiando leggermente con un cucchiaino metallico sterile, tanta sostanza quanta era necessaria per arrivare ad un segno inciso sulla superficie interna del cucchiaio. Questo materiale veniva sbattuto in 10 cc. di acqua sterile e si facevano le piastre in agar ed in gelatina con $^1/_{10}$ di cc. di tale sospensione. Fatta questa prima presa s'infettava mediante la pompa Candeo-Borgonzoli la superficie circoscritta con una sospensione omogenea di *micrococco prodigioso;* quindi, dopo asciugamento della parete, si prelevava per raschiamento la stessa quantità di materiale e si procedeva come sopra. In seguito, usando la pompa Brioschi si disinfettava uniformemente con la soluzione di lisoformio al 5 $^0/_0$ la parete e si eseguivano prelevamenti, a varia distanza di tempo, sempre nello stesso modo e della stessa quantità per farne le piastre.

Nella seguente tabella (XI) riassumiamo le medie delle esperienze riportando il numero dei germi a 10 cc. di sospensione acquosa, avvertendo che i fondenti erano in totalità *micrococco prodigioso.*

---

(1) Tonzig: *Sul limite di efficacia pratica della disinfezione degli ambienti e su due speciali apparecchi per eseguirla. — Gazzetta degli Ospedali e delle Cliniche,* n. 90, anno 1900.

Tabella XI.

Numero delle esperienze	Prima della infezione			Subito dopo l'infezione			DOPO LA DISINFEZIONE dopo 15' minuti			dopo 30' minuti			dopo 1 ora			dopo 2 ore			dopo 12 ore		
	non fond.	fond.	muffe	non fond.	fond.	muffe	non fond.	fond.	muffe	non fond.	fond.	muffe	non fond.	fond.	muffe	non fond.	fond.	muffe	non fond.	fond.	muffe
1ª	2600	0	175	1695	18950	42	150	11500	14	250	205	44	0	0	17	—	—	—	—	—	—
2ª	160	0	1150	185	56	350	—	—	—	0	0	124	19	0	35	—	—	—	—	—	—
3ª	0	0	2600	0	4060	1100	—	—	—	18	105	120	0	0	200	0	0	106	—	—	—
4ª	152	0	165	40	250	50	—	—	—	—	—	—	250	150	0	54	0	62	350	0	200
5ª	1600	0	960	1515	109	1318	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1060	0	255	300	0	208

Dall'osservazione di questa tabella risulta adunque che il lisoformio uccide sicuramente e completamente in un' ora il micrococco prodigioso, con cui la parete è stata infettata. Dopo un' ora d' azione lo ritroviamo in una sola esperienza su quattro, e ciò può dipendere dal fatto che il raschiamento fu eseguito nel rispettivo luogo più profondamente in maniera da asportare i germi che si erano annidati nelle parti profonde del muro e che quindi più difficilmente potevano essere raggiunti dalla soluzione disinfettante.

Il lisoformio esercita adunque una discreta azione disinfettante sul micrococco prodigioso. Infatti i risultati nostri sono pressochè analoghi a quelli ottenuti da *Tonzig*, il quale adoperò una soluzione di sublimato corrosivo al 3 °/₀₀.

Grande resistenza al lisoformio offrirono le muffe, cosa del resto prevedibile dato che le loro forme resistenti sono assai difficilmente vinte dai disinfettanti in genere.

*
* *

IV. — Sebbene nell'ambiente scolastico le pareti ricoperte da tappezzerie siano da escludersi, tuttavia per la considerazione della possibilità che in scuole mal tenute, come sono per lo più quelle materne o private, ve ne siano, ed anche per completare lo studio della disinfezione delle pareti in generale, abbiamo voluto ricercare la

Azione del lisoformio sulle carte da tappezzeria.

Per tale studio abbiamo seguito lo stesso metodo che per le pareti. Però in questo caso abbiamo studiato anche se e in che modo la soluzione di lisoformio danneggiasse eventualmente la carta.

Esponiamo prima di tutto i risultati ottenuti dall' esame batteriologico riassumendoli nella tabella XII, nella quale i fondenti sono dati in totalità dal micrococco prodigioso.

Tabella XII.

Numero delle esperienze	Prima della infezione			Subito dopo l'infezione			DOPO LA DISINFEZIONE														
							dopo 15' minuti			dopo 30' minuti			dopo 1 ora			dopo 2 ore			dopo 12 ore		
	non fond.	fond.	muffe	non fond.	fond.	muffe	non fond.	fond.	muffe	non fond.	fond.	muffe	non fond.	fond.	muffe	non fond.	fond.	muffe	non fond.	fond.	muffe
1ª	1100	0	408	865	inn.	385	96	0	126	—	—	—	55	0	65	—	—	—	—	—	—
2ª	250	0	550	550	15000	380	1060	6800	180	500	4300	68	196	0	72	—	—	—	—	—	—
3ª	406	0	680	108	15100	655	—	—	—	0	0	126	0	0	108	0	0	197	—	—	—
4ª	184	0	209	150	350	332	—	—	—	—	—	—	0	—	200	0	0	55	210	0	50

In questo caso la disinfezione delle carte infettate col micrococco prodigioso si è avverata in un tempo minore di quello dimostrato necessario per le pareti; cosa dovuta forse alla superficie meno scabra, che dà perciò minor facilità di ricettacolo ai microrganismi, e anche alla imbibizione completa della soluzione e quindi all'azione più attiva che questa potè esercitare sui germi. E ciò dimostra pure che all'azione di una soluzione di lisoformio al 5 °/₀ il micrococco prodigioso può resistere 30′ minuti.

Anche in questo caso le muffe resistettero assai al disinfettante.

Per vedere poi se la soluzione al 5 °/₀ di lisoformio danneggiasse le tappezzerie abbiamo fatto l'esperienza fissando al muro parecchi campioni di carte diverse per qualità e colorazione e trattandole con soluzione di lisoformio spruzzatavi sopra con la pompa Brioschi.

I risultati ottenuti sono i seguenti:

Carta qualità finissima:

colorata in noce con fregi dorati — nessun cambiamento.

tutta dorata con fiori rossi . . — leggiero cambiamento della colorazione rossa, ma uniforme.

bianca con decorazioni dorate . — nessun cambiamento.

bianca tipo rasato con fiori lilla e foglie verdi . . . . . . — nessun cambiamento.

lavorata a paglia, di color noce con fiori dorati . . . . . . — l'oro è meno splendente, la tinta noce è uniformemente più chiara.

Carta qualità fina:

colorata in celeste uniformemente — nessun cambiamento della colorazione, vi sono però delle macchie bianche.

di color verde con fiori rossi . — nessun cambiamento.

colorata in marrone con foglie verdi. . . . . — la tinta del fondo è leggermente e uniformemente arrossata.

di color feccia di vino uniforme — la carta è tutta macchiata ed ha cambiato colore.

Carta qualità ordinaria:

bianca-grigia	— nessun cambiamento.
di color giallo con righe di color marrone	— la colorazione marrone si è arrossata.
di color verde con decorazioni celesti	— nessun cambiamento.
di color rosso con decorazioni gialle	— il color rosso si è propagato sulle decorazioni.
a righe di color noce e grigio .	— il fondo grigio è sbiadito.

In generale le carte non restano guastate dalla soluzione di lisoformio, perchè, se pure si nota un leggiero cambiamento nella colorazione, questa riesce uniforme; solo nelle carte ad una sola tinta si nota un deposito di piccole macchie bianche dovute al sapone di cui il lisoformio è composto.

Sentiamo il dovere di francamente notare che il liquido che usciva dalla pompa polverizzato, mediante un getto finissimo, si espandeva per l'aria dando un odore intenso di formaldeide, e produceva durante la disinfezione una irritazione acuta delle mucose dell'occhio e del naso, irritazione che cessava dopo un po' di tempo.

In un caso, in cui venne fatta una larga disinfezione dell'ambiente, e per necessità dell'esperienza abbiamo dovuto rimanere per due ore continuamente nel locale disinfettato, in uno di noi si è manifestata una forma leggiera di congiuntivite durata un paio di giorni, nell'altro infiammazione delle mucose del naso, della retrobocca e del faringe durata anche in questo caso un paio di giorni.

*
* *

V. — Disinfezione dei pavimenti.

Giacchè di frequente ricorre nelle scuole il bisogno di disinfettare i pavimenti in modo da non riuscire pericoloso agli scolari, abbiamo creduto opportuno di fare qualche ricerca

anche sulla disinfezione dei pavimenti col lisoformio. E prima di passare a studiare la disinfezione di pavimenti inquinati con speciali germi patogeni, abbiamo voluto vedere il comportamento della soluzione di lisoformio al 5 $^0/_0$ sui pavimenti in genere.

La polvere veniva ammucchiata con batuffolo di cotone sterile e raccolta in un cucchiaino di platino sterile fino ad una intaccatura fatta nel suo interno. La quantità che così se ne raccoglieva corrispondeva sempre a 1/4 di cc. Piuttosto che prenderne la stessa quantità per pesata, data la differenza di peso che potevano offrire le varie polveri, abbiamo preferito raccogliere la polvere sempre nello stesso volume, come già aveva fatto il *Graziani* (1), in questo Istituto, nel suo studio sulle polveri delle chiese, e come aveva ben imitato il Padre *Gemelli* ripetendo posteriormente le ricerche sullo stesso argomento.

Si sospendeva tale polvere in 10 cc. di acqua sterile, si sbatteva a lungo il liquido e quindi lasciatolo decantare se ne prelevavano quantità varie ($^1/_{10}$-$^2/_{10}$-$^1/_2$ cc.). Su ogni quantità prelevata si facevano due piastre in agar e due in gelatina, in modo da avere 12 piastre per ogni campione.

Tale operazione si ripeteva dopo aver abbondantemente disinfettato il pavimento con soluzione al 5 $^0/_0$ di lisoformio, mediante la pompa Brioschi, la qual cosa si faceva talvolta anche con acqua semplice sterilizzata a fine di controllare quanto vi contribuiva il fatto meccanico, indipendentemente dell'azione propria del disinfettante. Nella seguente tabella (13) sono riferite le medie dei germi trovati e riportati col calcolo a tutta la polvere prelevata in ogni esperienza. Le prese di polvere, dopo ch' era stato versato il disinfettante sul pavimento, venivano fatte un'ora e due ore dopo l'azione di questo.

---

(1) Graziani: *Sul contenuto batterico delle polveri delle chiese e del sudiciume dei confessionali.* Giornale della R. Società Italiana di Igiene. Volume XXIX, p. 348 a. 1907.

Tabella XIII.

Numero delle esperienze	DATA	Germi prima della disinfezione				Germi dopo trattamento con acqua				Germi 1 ora dopo la disinfezione				Germi 2 ore dopo la disinfezione			
		fond	non fond	muffe	totale	fond	non fond	muffe	totale	fond	non fond	muffe	totale	fond	non fond	muffe	totale
1.ª	7 6 1911	5160	5840	800	11800	—	—	—	—	120	460	210	790	50	120	164	334
2.ª	7 6 1911	4200	15000	1400	20600	—	—	—	—	99	206	401	706	62	209	152	423
3.ª	16 6 1911	1650	6400	1530	9580	—	—	—	—	550	230	403	1183	103	65	326	494
4.ª	16 6 1911	1720	5200	2060	8980	—	—	—	—	221	620	930	1771	79	58	431	568
5.ª	10 8 1911	3030	4526	410	7966	1690	1820	315	3825	—	—	—	—	—	—	—	
6.ª	10 8 1911	584	756	112	1452	482	165	89	736	—	—	—	—	—	—	—	

Dalla tabella risulta che pur ottenendo con una soluzione al 5 °/₀ di lisoformio una notevole diminuzione nel numero dei germi, che si trovano sul pavimento, pure non si ha la completa sterilizzazione (cosa che del resto è difficile di realmente conseguire con qualsiasi disinfettante), ma di fronte ad una diminuzione del 48.4 °/₀ che si raggiunge anche con semplice lavaggio con acqua distillata, si avvera solo una diminuzione dell'85.5 °/₀ dei germi, alquanto minore della diminuzione notata dal Padre *Gemelli* sui pavimenti delle chiese e da *Bordoni-Uffreduzzi* in quelli delle sale di aspetto e delle vetture di III[a] classe delle nostre ferrovie. Infatti il *Gemelli* ha avuto una diminuzione di oltre il 99 °/₀, e il *Bordoni-Uffreduzzi* del 96.5 °/₀.

Anche nel caso dei pavimenti le muffe offrono in confronto degli altri germi maggiore resistenza al disinfettante.

Per studiare l'azione del lisoformio su pavimenti inquinati con germi patogeni ci siamo serviti di tavolati di abete e di mattonelle di cemento compresso.

Per togliere il sudiciume ed ottenere una relativa disinfezione si lavava il pavimento con acqua e sapone, quindi abbondantemente con acqua per togliere ogni traccia di sapone in seguito con alcool. Si lasciava asciugare il pavimento sotto un riparo di cartone per impedire la caduta di pulviscolo e per conseguenza di germi dell'aria e l'azione dannosa della luce. Si inquinava quindi una zona, limitata da un segno, del pavimento con una sospensione acquosa omogenea del germe ottenuta da cultura su agar o su siero di sangue per striscio, e dopo essiccamento si disinfettava con lisoformio al 5 °/₀. Ad intervalli di tempo vari, a seconda dei germi adoperati, si facevano delle prese strisciando su un punto della zona inquinata un batuffolo di cotone sterile e bagnato in acqua sterile, e sbattendolo quindi in acqua, su cui si eseguiva la ricerca batteriologica.

a) Vibrione del colera: La ricerca batteriologica si eseguiva trasportando in acqua peptonizzata $^{2}/_{10}$ di cc. di acqua in cui, come si disse, era stato sbattuto il batuffolo. Se si otteneva lo sviluppo, si identificava il germe con tutti i mezzi che la tecnica batteriologica mette a disposizione.

Nella tabella 14ª esponiamo i risultati delle nostre esperienze.

TABELLA XIV.

Tempo di contatto col lisoformio	Pavimento di legno di abete	Pavimento di mattonelle di cemento compresso
5' minuti	sviluppo	sviluppo
10' »	»	»
15' »	»	»
20' »	non sviluppo	non sviluppo
25' »	»	»
30' »	»	»
35' »	»	
40' »	»	

b) Bacillo della difterite: Il trapianto si faceva in brodo glicerinato ($^2/_{10}$ di cc.), e in siero di sangue facendo cadere una goccia di liquido lungo la superficie.

Riassumiamo nella tabella 15ª i risultati delle nostre esperienze.

TABELLA XV.

Tempo di contatto col lisoformio	Pavimento di legno di abete	Pavimento di mattonelle di cemento compresso
5' minuti	sviluppo	sviluppo
10' »	»	»
15' »	»	»
20' »	»	»
25' »	»	non sviluppo
30' »	non sviluppo	»
35' »	»	»

c) Stafilococco piogeno aureo: Il trasporto si faceva in brodo ed in agar con le stesse quantità di liquido che per la difterite.

TABELLA XVI.

Tempo di contatto col lisoformio	Pavimento di legno di abete	Pavimento di mattonelle di cemento compresso
3 ore	sviluppo	sviluppo
3,30' ore	»	»
4 ore	»	»
4,30' ore	»	»
5 ore	non sviluppo	»
5,30' ore	»	»
6 ore	»	non sviluppo
6,30' ore	»	»

Come risulta dalle precedenti tabelle (14ª-15ª-16ª) il lisoformio in soluzione al 5 °/₀ uccide il vibrione del colera, sia esso su tavolato o su mattonelle, in 20' minuti; il bacillo della difterite in 30' minuti su tavolato e in 25' minuti su mattonelle; lo stafilococco piogeno aureo in 5 ore su tavolato ed in 6 ore su mattonelle.

Espettorato tubercolare. — Dato che le esperienze, fatte tenendo immerso lo sputo tubercolare nel lisoformio, avevano dimostrato che si deve agire almeno per 1 ora e mezza per ucciderne i bacilli, abbiamo creduto inutile cominciare le esperienze lasciando a contatto il materiale tubercolare con il disinfettante per pochi minuti, come nel primo caso si è fatto, e abbiamo tenuto come tempo minimo di immersione i 45' minuti.

Sul pavimento previamente lavato con cura veniva disteso lo sputo ricco di bacilli in grosso strato e dopo essicato sotto campana di vetro era largamente cosparso a mezzo della pompa con soluzione di lisoformio al 5 °/₀. A distanza di tempo si prelevava del materiale, strisciando ripetutamente ed ogni volta in punti diversi con un batuffolo sterile di cotone. Si lavava il cotone in acqua sterile e si inoculava il liquido ottenuto sotto cute alla cavia.

Le cavie morte venivano sezionate, quelle sopraviventi dopo ottanta giorni venivano sacrificate e sezionate.

Tabella XVII.

Numero della esperienza	DATA	TIPO DI PAVIMENTO ADOPERATO	Tempo di contatto dello sputo sul pavimento	RISULTATI
1.ª	26 5 1911	mattonelle di cemento compresso	45' minuti	morta per tubercol. diffusa dopo 20 giorni
2.ª	26 5 1911	» » »	1 ora	» » » » » 48 »
3.ª	26 5 1911	» » »	1,30' ora	vive
4.ª	1 6 1911	tavolato di abete	1 ora	morta per tubercol. diffusa dopo 45 giorni
5.ª	1 6 1911	» »	1,30' ora	vive
6.ª	1 6 1911	» »	2 ore	vive

Dopo un'ora e mezza di contatto col lisoformio al 5 °/₀ si è ottenuta la sterilizzazione dell'espettorato tubercolare, fosse esso sparso su tavolato o su mattonelle di cemento, in un tempo quindi minore che per lo sputo immerso nella soluzione del lisoformio, cosa prevedibile, dato che sui pavimenti lo sputo era in istrato relativamente sottile, mentre invece, quando veniva posto nella soluzione, questa doveva agire su una massa rotondeggiante, difficile ad aggredire al centro, dove potevano ancora resistere vivi dei bacilli, quando la superficie dello sputo era già stata sterilizzata. E forse l'azione dissolvente del sapone deve a ciò contribuire.

La stessa ragione va invocata anche per spiegare il più breve tempo impiegato ad uccidere sui pavimenti il *v. colerico.*

Il tempo risultato necessario in questa esperienza per ciascuno dei microrganismi studiati indica il tempo *minimo*, in cui i pavimenti da disinfettare dovrebbero essere ricoperti dalla soluzione al 5 °/₀ di lisoformio greggio, quando per speciali ragioni a questo disinfettante si volesse dare, per simile disinfezione, la preferenza; ma è consigliabile di prolungare la sommersione per un tempo maggiore, il doppio od anche il triplo.

CONCLUSIONI.

Dalle nostre ricerche possiamo conchiudere che:

1.° — Dei varî componenti del lisoformio;

a) la soluzione acquosa di alcool nelle stesse proporzioni, in cui si trova nel lisoformio al 5 °/₀, non esercita alcuna azione disinfettante sul bacillo della difterite, sul vibrione del colera, sullo stafilococco piogeno aureo, sulle spore del carbonchio;

b) la soluzione di oleato di potassio fatta con lo stesso criterio non ha azione disinfettante sul bacillo della difterite, sul vibrione del colera, sullo stafilococco piogeno aureo, mentre invece pare che eserciti una speciale, ma per ora non bene interpretabile influenza sulle spore di carbonchio;

c) Similmente nessun'azione esercita sugli stessi germi la soluzione di essenze di citronella e di eucalyptus nelle proporzioni, in cui sono contenute nel lisoformio;

d) la soluzione di formalina contenente formaldeide nella stessa quantità in cui è contenuta nella soluzione di lisoformio a varie concentrazioni, possiede invece un potere disinfettante che può considerarsi in sostanza eguale a quello del lisoformio; onde l'azione disinfettante di questo si deve esclusivamente alla formaldeide disciolta in un mestruo che ha lo scopo di renderla meno irritante sulla cute, di attenuarne il caratteristico odore e di facilitarne la penetrazione in alcuni corpi.

2.° — Limitandoci alla soluzione al 5 °/₀ di lisoformio, alla cui azione del resto di poco si discosta quella delle soluzioni al 3 °/₀ e al 4 °/₀, osserviamo che essa uccide il bacillo della difterite ed il vibrione del colera in 25'-30' minuti e lo stafilococco piogeno aureo in 3.30'-4 ore. Le spore di carbonchio messe direttamente in tale soluzione da una cultura in agar di 48 ore, perdevano il potere di svilupparsi in brodo dopo 15' minuti, mentre ancora dopo un'ora si sviluppavano in agar a becco di flauto ed erano capaci di uccidere una cavia dopo un'ora e mezza.

Il bacillo di Koch, contenuto nello sputo tubercolare, veniva ucciso dal lisoformio in soluzione acquosa al 5°/₀ nel tempo di 1.30' ora.

3.° — L'azione del lisoformio, come di tutti i disinfettanti, aumenta con l'aumentare della temperatura, diminuisce col decrescere di essa.

4.° — L'azione deodorante del lisoformio, negli ambienti dove si svolgono gas putridi, è dovuta in parte a fissazione di NH_3 ed in maggior parte ad una sovrapposizione di odore per le essenze che contiene.

5.° — Alla soluzione di lisoformio al 5 °/₀ la resistenza dei germi, artificialmente portati sulla superficie di vari oggetti (giocattoli di varia natura, lapis, portapenne, bicchieri, piattini), è pressochè analoga a quella dei germi stessi portati direttamente nella soluzione disinfettante.

6.° — La soluzione di lisoformio nella disinfezione

delle stoffe non le danneggia, solo modifica leggermente e uniformemente la tinta di alcune di esse per la formaldeide che contiene. Le stoffe infettate con i soliti germi vengono sterilizzate in 35′ minuti per il bacillo della difterite, in 30′ minuti per il vibrione del colera, in 4.30′ ore per lo stafilococco piogeno aureo.

7.° — La disinfezione delle pareti, studiata adoperando il micrococco prodigioso, dimostra che il lisoformio è capace di uccidere su di esse, nel maggior numero dei casi, in un'ora questo germe, il quale, anche per esperienze altrui (*Zlatogorow*). si dimostra di fronte al lisoformio più resistente del bacillo della difterite e del vibrione colerico.

8.° — La disinfezione delle carte da tappezzeria, infettate col micrococco prodigioso, si ha dopo un'ora di contatto con la soluzione disinfettante; le carte poi non vengono guastate nella disinfezione, ma solo nelle tappezzerie a tinta uniforme si notano delle piccole macchie dovute a deposito di sapone.

9.° — Disinfettando i pavimenti in genere con soluzione al 5 °/₀ di lisoformio, si ottiene per lo meno una diminuzione dell'85.5 °/₀ nel numero dei germi; fra questi però le muffe presentano una diminuzione numerica minore.

I pavimenti, siano di legno o di mattonelle, inquinati con il vibrione del colera, vengono sterilizzati in 20′ minuti, con il bacillo della difterite in 30′ minuti, se si tratta di tavolato, in 25′ minuti se di mattonelle; con lo stafilococco piogeno aureo in 5 ore se tavolato e in 6 ore se mattonelle.

Il bacillo di Koch contenuto nello sputo tubercolare sparso su questi pavimenti non dà più manifestazioni specifiche nelle cavie dopo che è rimasto per un'ora e mezza a contatto con la soluzione al 5 °/₀ di lisoformio.

Padova, Agosto 1911.

LETTERATURA

(Vi son riferite la maggior parte, non tutte le pubblicazioni sul Lisoformio).

STRASSMANN - Vortrag über Lysoform, gehaltem am 25 Mai in der Berliner Gesellschaft f. Geburtshilfe und Gynäkologie. *Centralblatt f. Gynakologie,* N. 28, 1900.

AHLFELD. - Prüfung des Lysoforms als Händedesinfiziens. *Centralblatt f. Gynecologie.* 1900

STRASSMANN. - Zur Händedesinfection nebst Bemerkungen über Lysoform. *Therapie der Gegenwart.* N. 8, 1900.

SIMONS. - Ueber Lysoform. *Allgem med. Centralzeitung.* N. 66, 1900.

STRASSMANN. - Bermerkungen zur Händedesinfection. *Centralblatt f. Gynekologie.* N. 11, 1911.

SYMANSKI - Ueber Lysoform als Desinficiens. *Vortrag gehalten in Verein f. wissenschaf. Heilkunde.* Könisberg, 1901.

SYMANSKI. - Einige Desinfectionsversuche mit einem neuen Desinficiens « Lysoform. » *Zeitschrift f. Hygiene und Infectionskrankeiten.* Vol. 37, 1901.

CRAMER. - Bacillol und Lysoform, zwei neuere Desinfectionsmittel. *Münchener med. Wochenschrift.* N. 41, 1901.

VERTUN. - Bemerkungen zu dem Artikel des Herrn Prof. Cramer « Bacillo und Lysoform » *Münch. med. Wochenschrift.* N. 46, 1911.

HAMMER. - Einiges über die Verwendbarkeit des Lysoforms in der Geburtshilfe. *Centralblatt f. Gynekologie.* N. 17, 1902.

VERTUN. - Lysoforms als Antisepticum. *Centralblatt f. Gynekologie.* 30, 1902.

GOLINER. - Beitrag zur Wirkung des Lysoforms - *Medico.* 1901.

ARNHEIM. - Lysoformlösungen zur Verhütung des Auflaufens des Kehlkopfspiegels. *Allgem. med.* Centralzeitung. N. 47, 1901.

PFUHL. - Ueber Lysoform und Albargin. *Hygienische Rundschau.* N. 3, 1902.

SEYDEWITZ. - Untersuchungen über die Keimtodende Wirkung des Lysoform. *Centralblatt f. Bacteriologie,* N. 3, 1902.

ENGELS. - Bacteriologische Prüfungen desinfizierter Hande ecc. *Archiv. f. Hygiene.* Vol. 45.

GALLI-VALERIO. - Etwas über Lysoform. *Therapeut. Monatschrift.* N. 9. 1903.

NAGELSCMIDT. - Ueber die toxologischen Eigenschaften des Lysoforms. *Therapeut Monatschrift.* N. 9, 1902.

NAGELSCMIDT. - Karbolsäure, Lysol, Lysoform. *Therapeut Monatschrift.* N. 2, 1903.

GEISSENDÖRFER - Untersuchungen über Lysoform. *Inaugural Dissertation* Bern 1903.

MODE. - Günstiger Verlauf von Lysoformswirkung bei verseheutlich innerer Darreichung. *Therapeut* Monatschrift. N. 6, 1904.

SCHAFFER (citato da Rosemann) - Sitzung der *Gesellsch f. Geburtshilfe und Ginäkologie.* 1904.

ROSEMANN - Ueber den Wert des Lysoform als Autiseptikum (È una pubblicazione riassuntiva in fascicolo separato).

GALLI E CERADINI. - Il Lysoform. *Giornale della Reale Società italiana d'igiene.* 1904.

HOLLES. - Ueber die bacterientötende Wirkung des Lysoforms. *Mitteilungen aus dem II Institute für pathologische Anatomie der Universitat Budapest* (Estratto).

SCHNEIDER. - Der desinfectionswert des Lysoforms bei mässig erhöhter Temperatur. *Deutsche medic. Wochenschrift.* N. 6, 1906.

ZLATOGOROW. - Lysoform als Desinficiens. *Allg. medic. Centralzeitung.* N. 31, 1908.

GEMELLI. - Sulla disinfezione delle chiese mediante il Lysoform. Milano 1908.

BORDONI UFFREDUZZI E BERETTA. - Un esperimento di disinfezione col Lysoform nelle Ferrovie dello Stato. *Giornale dei lavori pubblici* N. 8, 1908.

BORMANS. - Sul valore disinfettante del Lysoform. *Rivista d'igiene e sanità pubblica.* N. 13, 1911.